Gélose de BAIRD-PARKER RPF précoulée (BP 55 mm)

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Baird-Parker avec plasma de lapin et fibrinogène (RPF = Rabbit Plasma Fibrinogen) permet la détection et la numération directe des staphylocoques pathogènes, ainsi que leur confirmation. Cette gélose présente l'avantage de très nettement réduire le nombre de tests de confirmation lorsque la présence de staphylocoques à coagulase positive ne se manifeste pas de façon évidente sous l'aspect de colonies bien typiques sur d'autres milieux sélectifs. Le milieux pré-coulé est utilisé pour le dénombrement et la confirmation des staphylocoques pathogènes lors de la mise en œuvre de la norme XP T 90-412 dans le cadre du contrôle des eaux.

HISTORIQUE

La production de coagulase libre, considérée comme étant le caractère principal utilisé pour la reconnaissance de la pathogénicité des staphylocoques et notamment de *Staphylococcus aureus*, a été à l'origine de la mise au point du milieu de Baird-Parker au plasma de lapin et fibrinogène. Les premiers essais d'incorporation de plasma à des milieux de culture gélosés ont révélé des discordances entre les résultats obtenus par le test de mise en évidence de la coagulase en tube et la formation d'un halo caractéristique de fibrine autour des colonies. Les écarts observés résultaient du fait que certaines souches, possédant bien une coagulase, activaient également le système plasminogène-plasmine. Ce phénomène provoquait une fibrinolyse dont la conséquence se manifestait par la disparition du halo. Pour pallier cette difficulté, l'addition du facteur antitrypsique de la graine de soja a été recommandée.

En 1976, afin de favoriser la mise en évidence de la coagulase produite par *Staphylococcus aureus*, Devoyod *et al*. ont étudié l'incorporation de plasma de porc au milieu de Baird-Parker. Ultérieurement, Hauschild a amélioré les performances du milieu de Devoyod en y incluant du fibrinogène bovin et le facteur antitrypsique tout en diminuant corrélativement la quantité de plasma. En 1983, Beckers *et al*. ont modifié le milieu de Hauschild en remplaçant le plasma de porc par le plasma de lapin plus classiquement utilisé pour l'épreuve de la coagulase. Ces auteurs ont également ensemencé le milieu en profondeur contrairement à la technique antérieurement pratiquée en double couche par Devoyod. Enfin, la formulation a été améliorée par Sawhney en 1986, au terme de son étude relative à la toxicité du tellurite de potassium vis à vis de *Staphylococcus aureus* dans un milieu au plasma de lapin avec fibrinogène.

PRINCIPES

- La croissance des staphylocoques est favorisée par le pyruvate de sodium et la glycine.
- La microflore secondaire est inhibée en présence de chlorure de lithium, de tellurite de potassium (ajouté extemporanément), ainsi que par la forte concentration en glycine.
- Le plasma de lapin a été choisi pour son excellente spécificité vis à vis de la coagulase staphylococcique et son aptitude à produire rapidement un coagulum en formant une staphylothrombine à partir de la prothrombine. Il est renforcé en fibrinogène bovin. La staphylothrombine agit en coupant les fibrinopeptides A et B du fibrinogène, entraînant un processus de polymérisation qui se traduit par l'apparition de fibrine autour des colonies.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

- L'inhibiteur de trypsine extrait du soja évite la fibrinolyse.
- La coloration noire des colonies de *Staphylococcus aureus* est due à la réduction du tellurite de potassium en tellure. De plus, la présence de tellurite favorise l'inhibition de la microflore contaminante à Gram positif.

MODE D'EMPLOI

Dénombrement des staphylocoques pathogènes dans le cadre du contrôle des eaux, méthode par filtration sur membrane :

- Déposer la membrane sur la boîte de Petri en veillant à ce qu'aucune bulle d'air ne s'interpose entre la membrane et la gélose.
- Retourner la boîte et incuber à 36 ± 2 °C pendant 21 ± 3 h et prolonger l'incubation jusqu'à 44 ± 4 h.

Confirmation des staphylocoques pathogènes dans le cadre du contrôle des eaux :

- Selon les recommandations de la norme XP T 90-412, transférer la membrane à partir du milieu Chapman au mannitol (BK030 ou BM148) ou à partir du milieu Baird-Parker jaune d'œuf tellurite [(BK055 + BS060) ; BM018 ou BM091].
- Il est possible également de prélever à l'aide d'un fil stérile une partie de la colonie à tester et de la repiquer sur Baird Parker RPF.
- Incuber à 36 ± 2 °C pendant 21 ± 3 h.

LECTURE / INTERPRETATION

Effectuer une première lecture à 21 ± 3 heures, puis une seconde à 44 ± 4 h.

Soulever la membrane pour vérifier la présence de zones opaques caractéristiques sur le milieu.

Les staphylocoques à coagulase positive sont caractérisés par la formation de colonies grises ou noires entourées d'un halo opaque de fibrine net et bien visible. Pour effectuer un dénombrement, procéder au comptage des boîtes.

Note 1

Une réversion des zones opaques peut très occasionnellement se produire à 48 h.

Note 2

Etant donné que le milieu entraîne une réaction à la coagulase, il n'est pas nécessaire de procéder à la confirmation des résultats par le test de la coagulase en tube.

FORMULE – TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales) :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ..... 9,47 g
- Extrait de viande ..... 4,74 g
- Extrait autolytique de levure ..... 0,95 g
- Pyruvate de sodium ..... 9,47 g
- Glycine ..... 11,37 g
- Chlorure de lithium ..... 4,74 g
- Agar agar bactériologique ..... 14,21 g
- Plasma de lapin, EDTA ..... 25,0 mL
- Fibrinogène bovin ..... 5,0 g
- Inhibiteur de trypsine ..... 25,0 mg
- Tellurite de potassium ..... 25,0 mg

pH du milieu complet prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu en boîtes : gélose ambrée.

- Réponse culturale de croissance après 44 h d'incubation à 36°C (XP T 90-412 ; NF T 90-461) :

Microorganismes	Croissance (Rapport de productivité)	Caractéristiques	
		Couleur des colonies	Halo de fibrine
Staphylococcus aureus CIP 53.154 *Enterococcus faecalis* CCM 2541	$66\% \leq R_3 \leq 150\%$ inhibée	noire	présence

STOCKAGE / CONSERVATION

- Stocker entre 2 et 14°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

Code

Milieu complet pré-coulé en boîtes de Petri :

- Coffret de 20 boîtes (Ø 55 mm) BM15908

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Loeb, L. 1903. The influence of certain bacteria on the coagulation of blood. Jour. Med. Res., 10: 407.

Duthie, E.S. 1954. Evidence of Two Forms of Staphylococcal Coagulase. J. gen. Microbiol., 10: 427-436.

Baird-Parker, A.C. 1962. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci. Jour. of Appl. Bact., 25: 12-19.

Devoyod, J.J., Millet, L., et Mocquot G. 1976. Un milieu gélosé pour le dénombrement direct de *Staphylococcus aureus*: milieu au plasma de porc pour *Staphylococcus aureus* (PPSA). Can. Jour. of Microbiol., 22 (11): 1603-1611.

XP T 90-412. Juin 2006. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des staphylocoques pathogènes. Méthode par filtration sur membrane.

NF T 90-461 (juillet 2001), NF T 90-461/A1 (juin 2005) et NF T 90-461/A2 (mai 2007). Qualité de l'eau. Contrôle qualité des milieux de culture.

NF T 90-421. Août 2006. Essais des eaux. Examens bactériologiques des eaux de piscines.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2011-03-10.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BM159/F/2011-03 : 01.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr